

*MISE AU POINT D'UNE MÉTHODE
PERMETTANT L'ÉTUDE
DE FEUILLES FOSSILES DU NÉOGÈNE*

Par JEAN HUARD

Résumé. — Exposé détaillé de techniques permettant le dégagement, le nettoyage, l'éclaircissement et le montage sur lame de verre de végétaux fossiles « momifiés » (feuilles, fruits ailés, fleurs, mousses) quels que soient leur taille et l'état de leur conservation.

A. — INTRODUCTION.

Au cours de l'étude paléobotanique des couches à lignite des Landes nous avons été amené à découvrir dans les morts-terrains de la mine d'Arjuzanx (près de Morcenx, à une centaine de kilomètres au sud de Bordeaux) les restes d'une flore fossile très bien conservée : bois, feuilles, fruits, fleurs, mousses, etc. Ces fossiles, d'âge très vraisemblablement miocène (J. HUARD et R. LAVOCAT, 1963) se rencontrent dans certains niveaux sablo-argileux peu épais situés à 2 m environ au-dessus de la couche de lignite et intercalés dans les argiles très homogènes qui constituent l'essentiel des formations encaissantes (J. HUARD et A. KLINGEBIEL, 1965).

Les feuilles accompagnées parfois de fruits ailés, de fleurs et de mousses se présentent à l'état momifié (voy. W. S. LACEY, 1963, p. 208), étroitement appliquées les unes sur les autres, séparées par une couche d'argile très mince, plus ou moins sableuse. Leur fragilité est telle qu'elles ne peuvent être isolées sans traitement préalable. Leur état de conservation correspond à la catégorie B de la classification des feuilles d'âge tertiaire établie par K. MÄDLER en 1952. (État de conservation A : feuilles momifiées dont les tissus sont parfaitement conservés ; B : feuilles momifiées dont le mésophylle est détruit ; C : feuilles imprimées dans un support et dont le mésophylle est détruit ; D : empreintes de feuilles avec quelques restes de substance foliaire ; E : empreintes totalement dépourvues de substance végétale).

Si des feuilles de la catégorie A ont déjà été isolées à plusieurs reprises (voy. par exemple K. MÄDLER, 1939 et D. L. DILCHER, 1965), celles dont la conservation correspond au type B n'ont été obtenues au contraire que très rarement et toujours à l'état de petits fragments ou de feuilles

de très petite taille (K. MÄDLER, 1939 et H. CZECHOTT, 1961 : feuilles de *Viscum lusaticum* à cuticule très résistante).

L'intérêt de la méthode exposée ci-dessous est de permettre l'obtention de feuilles de toutes tailles en préservant leur intégrité : les dimensions maximales des feuilles trouvées jusqu'à maintenant dans nos sédiments atteignent 10×4 cm mais des feuilles beaucoup plus grandes pourraient être traitées avec autant de succès.

Le montage des feuilles fossiles entre lame et lamelle assure leur conservation indéfinie et surtout permet de les examiner par transparence et d'en observer les structures les plus fines, notamment la forme des nervures de dernier ordre ainsi que la cuticule *in situ* toutes les fois où elle est conservée.

Ces feuilles sont facilement photographiables par contact ou agrandissement sur film négatif ou plus simplement directement sur papier photographique.

B. — EXTRACTION ET MONTAGE.

1) *Dégagement.* — Le bloc à étudier (qui doit toujours être maintenu humide et à l'abri de l'air en attendant d'être traité) est mis à tremper pendant douze heures environ dans l'eau d'une cuvette à fond plat. Lorsqu'il est bien imbibé et ramolli deux méthodes sont à envisager suivant sa nature (niveau argileux ou plus ou moins sableux) :

— Si le bloc est très sableux il est efficace de le congeler, ce qui a pour effet de séparer mécaniquement les différents niveaux de feuilles. Après un dégel lent il devient possible de prélever les feuilles fossiles une à une à l'aide d'une spatule appropriée (lame de zinc arrondie à une extrémité) et d'un pinceau souple.

— Si les feuilles sont étroitement appliquées les unes contre les autres ou séparées par une mince couche d'argile fine et cohérente le gel n'est pas efficace. Il faut lui préférer une autre opération : à l'aide de grandes spatules des lits de feuilles de 2 cm d'épaisseur environ sont prélevés sur le bloc détrempé et immergés dans de l'eau additionnée de quelques ml d'eau oxygénée à 120 volumes (10 à 20 ml par litre d'eau) et de quelques gouttes de soude. Il se produit un dégagement abondant d'oxygène sous forme de petites bulles au contact des feuilles qui finissent par se trouver ainsi progressivement séparées et soulevées (le dégagement gazeux doit être efficace mais rester modéré pour ne pas détruire les feuilles). Il est alors aisé d'isoler chaque feuille en glissant une spatule par dessous.

LÉGENDES DE LA PLANCHE I

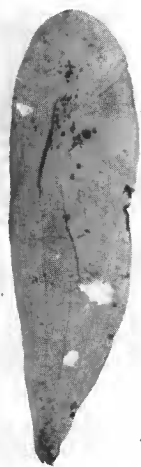
1-5 : Photographies de feuilles et fruit fossiles effectuées par contact (1-3, 5) et par agrandissement ($4 : \times 12$) sur film négatif, puis tirées sur papier photographique.

6-10 : Photographies des mêmes éléments effectuées directement sur papier photographique et apparaissant ainsi « en négatif ».

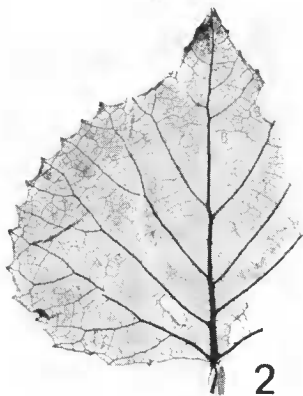
(1 et 6 : *Viscum* sp. ; 2 et 7 : *Populus* sp. ; 3 et 8 : *Cinnamomum* sp. ; 4 et 9 : *Cinnamomum* sp., détail $\times 12$; 5 et 10 : fruit de *Carpinus* sp. (Déterminations en cours).



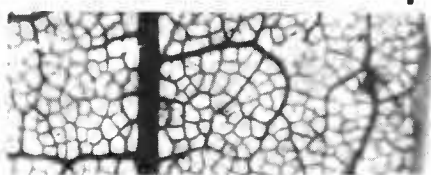
3



1



2



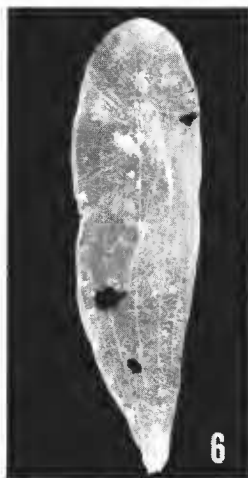
4



5



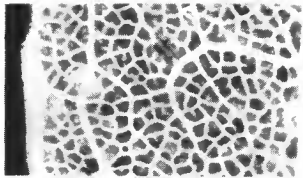
8



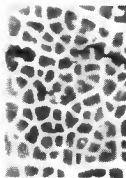
6



7



9



10

2) *Nettoyage*. — La feuille adhérant à la spatule par capillarité peut alors supporter un nettoyage progressif et minutieux ; à l'aide d'un pinceau très souple et non effilé on tapote légèrement sur la feuille, bien perpendiculairement à sa surface (en effet tout mouvement de frottement latéral impose de grandes tractions au tissu foliaire et le brise).

Le dépôt d'argile et les débris végétaux de petite taille sont progressivement usés et éliminés grâce à l'eau dont on imbibe continuellement le pinceau et qui coule sur la feuille.

Lorsque la première face est complètement débarrassée de ses impuretés la meilleure façon de procéder pour retourner la feuille sans danger consiste à immerger la spatule dans l'eau avec la feuille à sa face inférieure. La feuille se décolle doucement de la spatule et il ne reste plus qu'à la saisir délicatement par dessous avec la même spatule (fig. 2).

Ce nettoyage assez rapide dans le cas, rare, où le niveau est de nature sableuse devient plus long et plus délicat lorsque la feuille est enrobée d'argile. Dans ce cas l'opération est rendue plus efficace par l'emploi d'un « pinceau vibrant ». Il suffit de relier le pinceau à un système susceptible de lui transmettre des vibrations de faible amplitude (fig. 1) ; nous avons réalisé ce montage d'une manière fort simple en fixant notre pinceau, à l'aide de braccets de caoutchouc à une « spatule vibrante » utilisée par les chimistes pour les pesées de précision¹. Cet appareil léger et de faible encombrement s'est révélé très maniable et a permis de diminuer d'environ cinq fois le temps de nettoyage d'une feuille.

3) *Éclaircissement et préparation au montage* (fig. 3). — Parmi les éclaircissants habituellement utilisés le seul respectant l'intégrité de notre matériel est l'eau oxygénée très diluée (1 à 3 ml d'H₂O₂ à 120 volumes par grande boîte de Pétri, mais ces proportions doivent être adaptées à l'état de conservation des feuilles et également à leur résistance propre différant selon les espèces). Les feuilles à éclaircir sont placées en nombre limité (1 à 5 suivant leur taille) dans de grandes boîtes de Pétri contenant l'eau oxygénée en solution, pendant une dizaine d'heures.

Après éclaircissement les feuilles sont extrêmement fragiles et il n'est plus possible de les manipuler ni même de déplacer les boîtes de Pétri qui les contiennent. La suite du traitement doit donc se faire sans leur imposer la moindre traction ni la plus petite vibration. Les liquides successifs nécessaires à leur rinçage, leur déshydratation et leur montage sont introduits par siphonage lent et éliminés par aspiration (également avec un siphon ou d'une manière plus pratique à l'aide d'une trompe à eau : fig. 3).

Les opérations sont les suivantes :

— Rinçage à l'eau ;

— Deux bains d'alcool absolu (il n'est pas utile de procéder à une déshydratation progressive qui n'apporte — dans le cas de ces végétaux

1. « Spatule vibrante » METTLER, Zurich.

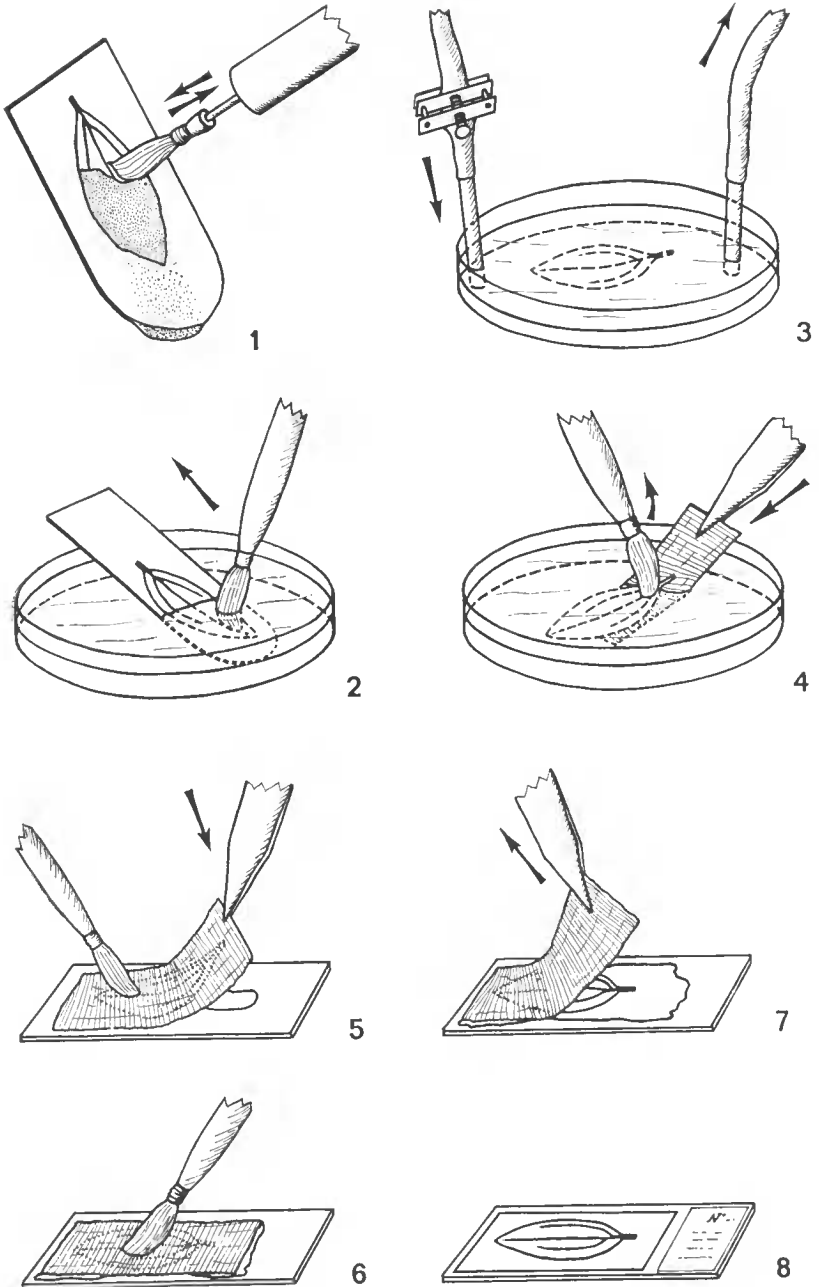


FIG. 1-8. — 1 : Nettoyage à l'aide du « pinceau vibrant » d'une feuille recueillie sur une spatule en zinc ; 2 : Reprise de la feuille à l'aide de la spatule, après avoir nettoyé une de ses faces et l'avoir retournée ; 3 : Dispositif permettant le changement des différents liquides de traitement par siphonage et aspiration ; 4 : Reprise de la feuille éclaircie à l'aide d'un morceau de papier crépon ; 5 : La feuille est déposée sur une lame porte-objet recouverte de Baume du Canada ; 6 : La feuille est appliquée sur la lame et les bulles d'air sont chassées à l'aide du pinceau ; 7 : Le papier support de la feuille est retiré délicatement ; 8 : Aspect de la préparation terminée, recouverte d'une lamelle couvre-objet.

fossiles — que des risques supplémentaires et inutiles de détérioration ;

— Un bain (rapide) de xylène ou de toluène.

4. *Montage* (fig. 4 à 8). — Il se fait dans le Baume du Canada : cette dernière opération est extrêmement délicate. Il faut en effet transporter la feuille, sans la détruire, du bain de xylène sur une lame de verre porte-objet recouverte de Baume du Canada. Les spatules rigides en zine n'étant plus adéquates nous avons été amené à utiliser des morceaux de papier érèpon souple et résistant (les meilleurs résultats ont été obtenus avec des papiers « torehons de ménage » dont la surface rugueuse maintient particulièrement bien la feuille qui s'en décolle parfaitement lors de la dernière manipulation ; nous avons employé d'une manière habituelle du papier « Sopalin » de couleur jaune paille qui devient translucide quand il est imbibé de xylène).

La technique est la suivante :

— Un fragment de papier de taille légèrement supérieure à celle de la feuille à monter est glissé sous celle-ci, flottant dans le xylène, puis il est retiré doucement du liquide, emportant la feuille qui se trouve appliquée progressivement à sa surface (fig. 4).

— La feuille maintenue par le papier est ensuite égouttée puis posée sur une lame porte-objet préalablement recouverte d'une couche régulière de Baume du Canada (fig. 5). La feuille est alors étroitement appliquée sur cette lame à l'aide d'un pinceau qui chasse toutes les bulles d'air et l'excès de baume (fig. 6). Il faut ensuite retirer le papier-support comme on procède en décalcomanie (fig. 7) à l'aide de pinces fines.

— Il ne reste plus qu'à ajouter du Baume du Canada en quantité suffisante et couvrir d'une lamelle couvre-objet de taille convenable qu'on a soin de rapprocher tout doucement et progressivement de la lame (sinon les courants créés dans le baume qui s'étale disloqueraient la feuille qui serait réduite en débris inutilisables).

C. — PHOTOGRAPHIE.

Les feuilles éclaircies et montées entre lame et lamelle peuvent être photographiées à l'aide d'un appareil photographique ou d'une manière beaucoup plus simple directement par contact :

— soit avec un film négatif (on obtient alors après le tirage de l'épreuve sur papier l'image exacte de la feuille : Pl. 1, fig. 1-3, 5),

— soit directement avec un papier photographique (le résultat correspond dans ce cas à l'image en négatif de la feuille : Pl. 1, fig. 6-8, 10). Ce deuxième procédé présente l'avantage de donner des photographies souvent plus nettes et plus contrastées que le précédent ; de plus il est beaucoup plus rapide, plus facile à réaliser et moins onéreux.